

EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO PROTÉICA SEVERA SOBRE ASPECTOS MORFOLÓGICOS E QUANTITATIVOS DOS NEURÔNIOS MIENTÉRICOS DO COLÓN ASCENDENTE DE RATOS

Catchia Hermes¹

Elton Carlos de Almeida²

Elisangela Aparecida de Souza²

Eduardo José de Almeida Araújo³

Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana⁴

HERMES¹, C; ALMEIDA², E. C; SOUZA², E. A; ARAÚJO³, E. J. A; SANT'ANA⁴, D. M. G. Efeitos da desnutrição Protéica Severa sobre Aspectos Morfológicos e Quantitativos dos Neurônios Mientéricos do Colón Ascendente de Ratos. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar**, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 5-10, jan./jun. 2008.

RESUMO: Objetivou-se avaliar os efeitos da desnutrição protéica sobre os aspectos morfológicos e quantitativos do plexo mientérico do colón ascendente de ratos adultos. Os animais controle (n=5) receberam ração comercial com 26% de proteína e os animais experimentais (n=4) ração com teor protéico reduzido para 4%, durante 90 dias. Por dissecação, elaboramos preparados totais, que foram corados pela técnica de Giemsa. Os ratos desnutridos apresentaram peso corporal 43,14% menor. A média da área do colón ascendente e a densidade neuronal estavam, respectivamente, 38,90% menor e 25,79% maior, em relação aos animais do grupo controle. Não foi observada redução no número total de neurônios mientéricos do cólon nos animais desnutridos. Dados morfométricos demonstraram aumento na área do pericário destes neurônios.

PALAVRAS-CHAVE: Carência Protéica. Neurônios Entéricos. Plexo Mientérico. Intestino Grosso.

EFFECTS OF SEVERE PROTEIN MALNUTRITION ON MORPHOMOLOGICAL AND QUANTITATIVE ASPECTS OF RAT ASCENDING COLON MYENTERIC NEURONS

ABSTRACT: The effects of protein malnutrition on morphological and quantitative aspects of the myenteric plexus of adult rat ascending colon. The control animals (n=5) received 26%-protein commercial feed while the experimental (n=4) received 4%-protein commercial feed for 90 days. Whole mount preparations were Giemsa stained for dissection. Malnourished rats presented 43.14% lighter body weight. The means of the ascending colon area and the neuronal density were 38.90% lower and 25.79% higher, respectively, in relation to the Control Group. No reduction of the total number of colon myenteric neurons of malnourished animals was noticed. Morphometric data showed an increase of the perikarium of these neurons.

KEYWORDS: Protein Lack. Enteric Neurons. Myenteric Plexus. Large Intestine.

EFFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN PROTEICA SEVERA SOBRE ASPECTOS MORFOLÓGICOS Y CUANTITATIVOS DE LAS NEURONAS DEL PLEXO MIENTÉRICO DEL COLON ASCENDIENTE DE RATONES

RESUMEN: Esta investigación tuvo como objeto evaluar los efectos de la desnutrición proteica sobre los aspectos morfológicos y cuantitativos del plexo mientérico del colon ascendente de ratones adultos. Los animales control (n=5) recibieron ración comercial con 26% de proteína y los animales experimentales (n=4) ración con tenor proteico reducido para 4%, durante 90 días. Por disección, elaboramos preparados totales, que fueron coloreados por la técnica de Giemsa. Los ratones desnutridos presentaron peso corporal 43,14% menor. La media del área del colon ascendente y la densidad neuronal estaban, respectivamente, 38,90% menor y 25,79% mayor, en relación a los animales del grupo control. No fue observada reducción en el número total de neuronas del plexo mientérico del colon, en los animales desnutridos. Datos morfométricos demostraron aumento en el área del pericario de estas neuronas.

PALABRAS CLAVE: Carencia Proteica. Neuronas Entéricas. Plexo Mientérico. Intestino Grueso.

Introdução

A importância do Sistema Nervoso Entérico (SNE) para a coordenação de todos os processos digestivos é bem conhecida, e com o advento de novas técnicas de estudo e a possibilidade de identificação de tipos neuronais distintos, assim como suas projeções, ampliou-se o interesse pelo con-

hecimento acerca dos neurônios e fibras nervosas que constituem esta rede neuronal entérica. Sabe-se que se trata de um sistema independente e integrativo, que difere em estrutura e função do Sistema Nervoso Simpático e Parassimpático (BREHMER, 2006).

A restrição protéica em dietas alimentares está relacionada com a diminuição no tamanho dos órgãos e peso

¹Farmacêutica, Acadêmica do Curso e Mestrado em Ciência Animal da UNIPAR.

²Acadêmicos do Curso de Enfermagem da UNIPAR.

³Professor titular do Curso de Enfermagem e Mestrado em Ciência Animal da UNIPAR

⁴Professora titular do Curso de Farmácia e Mestrado em Ciência Animal da UNIPAR. E-mail: debora@unipar.br

corporal, entre outras coisas, resultando em uma área intestinal menor, com um maior agrupamento de neurônios entéricos (TORREJAIS et al., 1995; NATALI; MIRANDA-NETO, 1996; MELLO et al., 1997; SANT'ANA et al., 1997; NATALI et al., 2000; BRANDÃO et al., 2003), ou até mesmo a diminuição quantitativa desses neurônios (NATALI et al., 1996; MEILUS et al., 1998; FIORINI et al., 1999; SANT'ANA et al., 2006).

Os efeitos da desnutrição sobre o cólon ascendente já foram anteriormente objeto de estudos morfológicos e quantitativos dos neurônios mientéricos. Mello et al. (1997), estudando o cólon de ratos submetidos à desnutrição protéica durante a gestação e/ou lactação, demonstraram que animais que receberam dieta hipoprotéica nos períodos de gestação e lactação não cresceram tanto quanto os que receberam ração normal, apresentando, conseqüentemente, neurônios entéricos menos esparsos e com aumento da incidência de neurônios grandes, sugerindo que desenvolvessem um mecanismo adaptativo que os levaria a armazenar nutrientes, aumentando seu corpo celular.

Sant'Ana et al. (2006), em estudo com ratos jovens, desnutridos e com carência de vitamina do complexo B, observaram uma redução no peso corporal, na média da área do cólon e na densidade neuronal dos animais desnutridos. Como a redução da área não foi acompanhada por aumento inversamente proporcional na densidade de neurônios, sugeriram que tenha ocorrido perda de neurônios entéricos. Ao estudar o cólon de ratos com desnutrição pré e pós-natal e realimentação pós-natal Castelucci, et al. (2002) avaliaram que, mesmo com redução no peso corporal e no órgão, os neurônios mientéricos ficam protegidos da perda pela restrição de proteínas, e que os neurônios tornaram-se menores, mas recuperaram o tamanho com a realimentação.

Considerando a complexidade do plexo mioentérico, o interesse crescente no estudo de seus neurônios e sua importância no controle de funções gástricas e intestinais, objetivou-se verificar os efeitos da desnutrição protéica severa sobre os aspectos morfológicos e quantitativos dos neurônios do plexo mientérico do cólon ascendente de ratos adultos.

Material e Métodos

Foram utilizados 9 ratos machos (*Rattus norvegicus*) Wistar, com 90 dias de idade, pesando em média $321,89 \pm 18,77$ g. Os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal da Universidade Paranaense (UNIPAR). Os ratos foram mantidos em caixas plásticas com tampa, em grades metálicas individuais, num biotério setorial, com controle de temperatura e com ciclo de claro/escuro de 12/12 horas, recebendo ração e água ad libitum. Os animais foram separados em dois grupos: controle e experimental, o grupo controle (n=5) foi alimentado com ração comercial⁵ com nível protéico de 26% durante 90. Os ratos do grupo experimental (n=4) receberam, durante o mesmo período, ração manipulada com 4% de proteína, que foi obtida através da redução do nível protéico da ração comercial,

por adição de amido de milho, sacarose, uma mistura de sais minerais e vitaminas do complexo B, segundo Araújo et al. (2005).

Durante os 90 dias de experimento, ambos os grupos foram monitorados semanalmente quanto ao peso. No final do experimento, todos os ratos ficaram em jejum por 12 horas, e foram submetidos à eutanásia segundo o protocolo anestésico: Acepromazina 2% (1,26 mL/kg) + Cetamina 10% (1,2 mL/kg) + Cloridrato de xilazina 2,5% (0,42 mL/kg) e Sulfato de atropina 1% (0,22 mL/kg) (PACHALY et al., 2003) por via intramuscular. Retirou-se o cólon ascendente de cada animal, medindo-se seu comprimento e largura com auxílio de fita métrica e régua milimetrada.

Todos os órgãos coletados foram lavados com solução salina a 0,9%, preenchidos e imersos em solução fixadora de formol acético por 48 horas. Os segmentos foram dissecados e corados com solução corante de Giemsa, em tampão fosfato de Sorensen (pH 7.0) (BARBOSA, 1978).

Os preparados totais foram confeccionados por dissecação, sob estereomicroscópio com trans-iluminação, através da remoção da túnica mucosa e da tela submucosa. A seguir, foram desidratados em séries crescentes de álcool etílico, diafanizados em xilol e montados entre lâmina e lâmina, com resina sintética⁶.

A análise quantitativa foi realizada usando-se microscópio fotônico Olympus BX40, sob objetiva de 40x. Em cada preparado total foram contados 120 campos microscópicos, considerando uma amostra homogênea de toda a circunferência intestinal. Os meios neurônios foram contados em campos alternados. A área de cada campo era de 0,14 mm².

A análise morfométrica dos neurônios mientéricos de todos os animais foi realizada a partir de imagens capturadas através de uma câmera digital⁷ acoplada a um microscópio de luz trinocular (MOTIC B5) utilizando o software Motic Images Plus, versão 2.0. Mensurou-se a área do pericário, do núcleo e do citoplasma de 300 neurônios de cada animal de cada grupo, considerando também uma amostragem homogênea de toda a circunferência intestinal.

Todos os dados levantados foram inicialmente submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov para verificação do tipo de distribuição. Dados com distribuição normal foram expressos como média \pm desvio-padrão. Para comparar dados entre os grupos, utilizamos teste t não pareado e um valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. Os neurônios foram divididos em classes, de acordo com a área do corpo celular (intervalos de 50 μ m²) e a razão entre as áreas do núcleo e do pericário (intervalos de 0,10). A incidência de neurônios por classes foi comparada pelo teste de Mann Whitney.

Resultados

No final do experimento, os animais do grupo controle pesavam $378,22 \pm 25,22$ g e os do grupo experimental $215,03 \pm 25,99$ g. Observamos, assim, um peso corporal 43,14% menor nos animais do grupo experimental

⁵ NUVILAB®

⁶ Permout® (Fisher Chemical, New Jersey, U.S.A.).

⁷ Moticam 2000, 2.0 M Pixel

($p < 0,001$).

A tabela 1 mostra os dados relativos a comprimento, largura, área e peso do cólon de ambos os grupos.

A análise quantitativa dos neurônios mientéricos demonstrou que a desnutrição induziu a maior concentração da população total, marcada pela técnica de Giemsa, em área $16,8\text{mm}^2$. A projeção do número de neurônios, para a área total do cólon, não mostrou diferença significativa entre grupo controle e experimental (tabela 2).

A área do pericário dos neurônios e de seus núcleos

foi maior no grupo experimental. Contudo, não houve alteração significativa da razão entre a área do núcleo e a do pericário (Tabela 3), mantendo-se também forte correlação positiva entre estes parâmetros (Figura 1). A distribuição do número de neurônios em classes, de acordo com área do pericário, assim como a razão entre a área do núcleo e do pericário, demonstrou uma tendência de distribuição normal. Os núcleos mostraram uma tendência de ocuparem uma menor parte do pericário do cólon ascendente dos animais experimentais (Figura 2).

Tabela 1 – Comprimento, largura, área e peso do cólon de ratos normoalimentados (Grupo Controle) e submetidos à desnutrição protéica (Grupo Experimental) (Umuarama, 2006).

Grupo	Comprimento (cm)	Largura (cm)	Área (cm ²)	Peso do cól
Controle (n=5)	15,56±2,30*	1,56±0,22**	24,52±6,46***	2,55±0,47****
Experimental (n=4)	12,49±1,65*	1,20±0,33**	14,98±4,56***	1,31±0,29****

* $p=0,0051$; ** $p=0,0263$; *** $p=0,0068$; **** $p=0,0001$

Tabela 2 – Densidade populacional e projeção do número de neurônios mientéricos para área total do cólon de ratos normoalimentados (Grupo Controle) e submetidos à desnutrição protéica (Grupo Experimental).

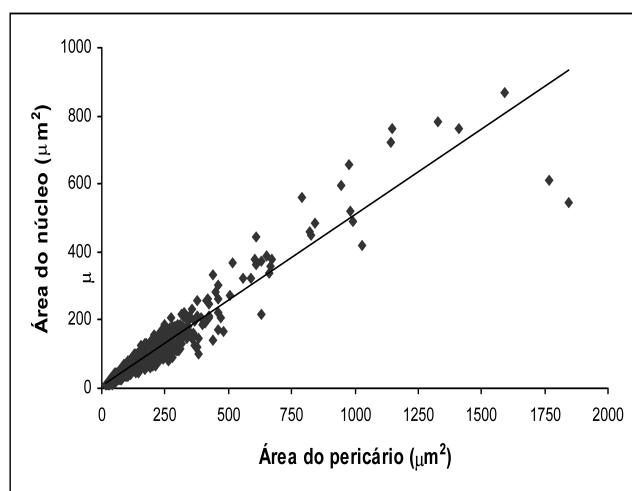
Grupo	Densidade populacional em $16,8\text{mm}^2$	Projeção do número de neurônios para área total do cólon
Controle (n=5)	4.079,8 ± 400,2*	594.190,0 ± 247.149,0
Experimental (n=4)	5.497,8 ± 157,9*	450.515,0 ± 29.255,0

* $p < 0,0001$.

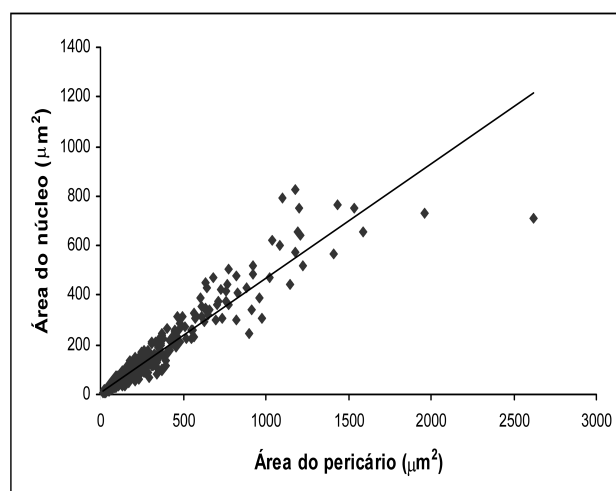
Tabela 3 – Área do pericário, área do núcleo e razão entre a área do núcleo e do pericário de neurônios mientéricos do cólon ascendente de ratos normoalimentados (Grupo Controle) e submetidos à desnutrição protéica (Grupo Experimental).

Grupo	Área do Pericário (μm^2)	Área do Núcleo (μm^2)	Razão entre a área do núcleo e do pericário
Controle (n=5)	133,42±144,38*	72,21±76,24**	0,55±0,10
Experimental (n=4)	158,08±205,12*	79,83±99,32**	0,52±0,10

* $p = 0,0003$; ** $p = 0,0242$.



A



B

Figura 1 – Gráfico de dispersão entre a área do pericário e a área do núcleo de neurônios mientéricos do cólon ascendente de ratos normoalimentados (Grupo Controle) (A, $r=0,9549$; $p < 0,05$;) e submetidos à desnutrição protéica (Grupo Experimental) (B, $r = 0,9546$; $p < 0,05$).

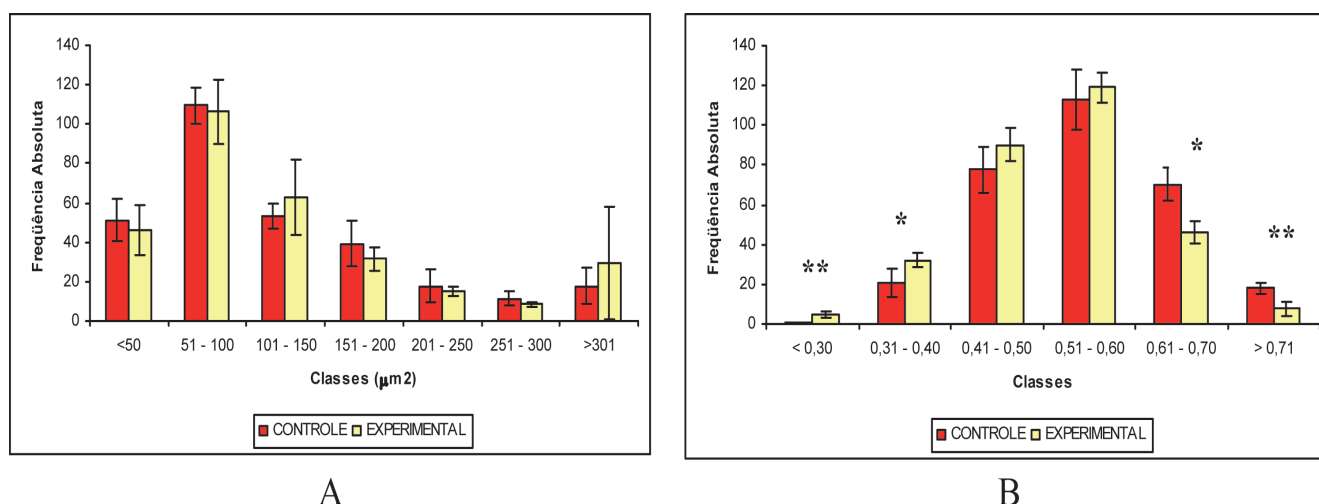


Figura 2 – Histograma de frequência absoluta da área do pericário (A) e da razão entre área do núcleo e do pericário (B) de neurônios mientéricos do cólon ascendente de ratos normoalimentados (Grupo Controle) e submetidos à desnutrição protéica (Grupo Experimental). Colunas da mesma classe marcadas com asterisco, se diferem significativamente (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

Discussão

A oferta de ração a 4% de proteína a ratos jovens, em crescimento, por 90 dias, demonstrou ser uma forma eficaz de induzir a desnutrição, visto que os animais apresentaram sinais clínicos característicos da doença, como redução do peso corporal e déficit de crescimento do cólon. Por outro lado, ainda possibilita a sobrevivência durante um período que caracterize cronicidade, visando a realização de estudos de alterações teciduais a longo prazo.

Estudos com ratos em crescimento têm mostrado que o nível protéico da dieta é um fator fundamental no ganho do peso corporal (NATALI; MIRANDA-NETO, 1996; SANT'ANA et al., 1997; FIORINI et al., 1999). Outros estudos realizados com restrição de proteínas obtiveram resultados semelhantes, no que diz respeito ao peso corporal (TORREJAIS et al. 1995; SANT'ANA et al., 1997; MEILUS et al., 1998; FIORINI et al., 1999; NATALI et al., 2000; SANT'ANA et al., 2001; CASTELUCCI et al., 2002; ARAÚJO et al., 2003; ZANIN et al., 2003; SANT'ANA et al., 2006). Neste estudo, os animais do grupo experimental mostraram peso corporal 43,14% menor em relação ao grupo controle ($p < 0,0001$). Estudos realizados previamente, porém com nível protéico de 8% levaram à diminuição do peso corporal de 14,8% no grupo experimental (SANT'ANA et al., 2006). Portanto, a redução no nível protéico para 4% foi mais comprometedora, pois não houve ganho de peso no grupo experimental, associado a redução média de 32% do peso ao final do experimento.

Neste estudo, observamos déficit no desenvolvimento no comprimento (19,73%), da largura (23,07%), da área (38,90%) e do peso (48,62%) do cólon dos animais do grupo experimental, dados esses também constatados em estudos prévios e por autores que avaliaram os efeitos da restrição protéica sobre o cólon de ratos (FIRMANSYAH et al. 1989; ARAÚJO et al., 2003; SANT'ANA et al., 1997; SANT'ANA et al., 2001; ARAÚJO et al., 2006).

Estudos biométricos e clínicos, realizados com estes mesmos animais, relatam que a dieta restrita a 4% de proteínas induziu à diarreia (ARAÚJO et al., 2006), um dos

sinais clínicos da desnutrição. A desnutrição pode resultar na alteração da motilidade intestinal em seres humanos, o que pode aumentar o tempo de trânsito intestinal ou promover diarreia (VITERI; SCHNEIDER, 1974). Como a motilidade intestinal é reflexo do funcionamento dos plexos entéricos, realizamos a quantificação destes neurônios.

A técnica de Giemsa cora toda a população neuronal, devido à sua afinidade pelos corpúsculos de Nissl (SANT'ANA et al., 1997; SANT'ANA et al., 2001; ARAÚJO et al., 2003). A análise quantitativa demonstrou maior densidade neuronal em animais desnutridos, fato frequentemente encontrado em estudos de desnutrição no intestino delgado (TORREJAIS et al., 1995; NATALI; MIRANDA-NETO, 1996; MELLO et al., 1997; NATALI et al., 2000; BRANDÃO et al., 2003) e no cólon (SANT'ANA et al., 1997; ARAÚJO et al., 2003; SANT'ANA et al., 2006).

Considera-se que menor crescimento corporal conduz à distribuição menor das células nervosas e, assim, de sua maior concentração por área (NATALI et al., 2005). A densidade de neurônios nos animais experimentais foi 25,79% maior que nos animais do grupo controle. Como o cólon mostrou-se 38,90% menor no grupo com restrição protéica, era esperado que os neurônios estivessem mais concentrados nessa mesma proporção, o que não foi observado, já que houve aumento de apenas 25,79%. Contudo, quando se realizou a projeção destas células para toda a extensão do cólon, o número de neurônios do órgão não apresentou diferença significativa. Resultado semelhante foi observado por Araújo et al. (2006), no cólon descendente de ratos desnutridos. Sugere-se que a redução da área do cólon seja resultante de um maior efeito deletério da dieta hipoprotéica sobre os tecidos epitelial e conjuntivo, já que são os que apresentam maior índice mitótico. Estes dados foram comprovados em outro estudo desenvolvido com animais submetidos ao mesmo experimento, no qual se verificou a redução significativa da túnica mucosa (HERMES et al., 2008).

Mello et al. (1997), ao estudar os efeitos da desnutrição a 8%, no cólon, durante a gestação e lactação, também não observaram diferença significativa na quantidade de neurônios corados com Giemsa, sugerindo que a privação de

proteína durante esses períodos não alteram a frequência de neurônios do plexo mientérico.

A análise morfométrica demonstrou que a área do pericário aumentou nos animais que sofreram restrição protéica, indicando que os neurônios tornaram-se hipertróficos.

Nossos dados diferem dos de outros autores que submeteram os animais a situações de restrição protéica, pois notaram redução na área do pericário de neurônios no intestino grosso (SANT'ANA et al., 1997; CASTELUCCI et al., 2002) e intestino delgado (TORREJAIS et al., 1995; NATALI et al., 2003). A diferença na área neuronal, mostrada pelos outros autores, pode ser devido às diferentes idades e condições experimentais, assim como também aos diferentes segmentos analisados do trato gastrointestinal.

A área do núcleo mostrou-se significativamente aumentada, o que deve ter contribuído para o aumento da área do pericário, o que estaria em consonância com a correlação positiva observada entre os mesmos. Por outro lado, ao observar-se a incidência de neurônios nas diferentes classes de razão entre a área do núcleo e a do pericário, percebe-se que houve redução na incidência dos neurônios que apresentavam núcleos maiores e aumento daqueles com núcleos menores, sugerindo que, apesar da correlação positiva, as alterações causadas pela desnutrição tenham atingido de forma diferente os neurônios das diversas classes estudadas. Miranda-Neto et al. (2000) sugerem que a maior área nuclear reflita maior atividade biossintética de um grupo de neurônios, possivelmente correlacionada com a síntese de neurotransmissores. Uma outra hipótese seria a interpretação do aumento celular como um crescimento compensatório dos neurônios restantes, em uma tentativa de manter uma inervação eficiente e de assegurar uma motilidade intestinal adequada (GOMES et al., 1997 apud NATALI et al., 2005).

Ao analisar a distribuição da área do pericário por classes, em intervalos de 50 micrometros, nós observamos que, apesar da diversidade de tamanhos de corpos celulares encontrados, a maioria dos neurônios de ambos os grupos estava entre 51 e 100 μm^2 . Schoffen et al. (2005), analisando a distribuição por classes entre o grupo controle e desnutrido, verificou que a maioria dos neurônios de ambos os grupos teve área que variou entre 101 a 300 μm^2 , mostrando uniformidade na distribuição dos mesmos.

Comparando-se a incidência de neurônios entre as diferentes classes, quanto à área do pericário, nos grupos estudados, verificou-se que a desnutrição não induziu a significativo aumento ou redução do número de neurônios distribuídos pelas classes.

Mello et al. (1997) e Natali e Miranda-Neto (1996), em estudos com ratos desnutridos durante gestação e lactação e alimentados posteriormente com dieta normoprotéica, observaram aumento na proporção de neurônios considerados grandes, aqueles cuja área do corpo celular fosse maior que a soma da média e desvio padrão. Natali e Miranda-Neto (1996) consideram que os animais do grupo que sofreram com a desnutrição, alojaram proteínas em seus neurônios quando a dieta normal foi restabelecida, como um meio de adaptação para a possível carência protéica. Outros autores encontraram, ao contrário, menor incidência de neurônios considerados grandes (TORREJAIS et al., 1995; SANT'ANA et al., 1997; MEILUS et al., 1998; FIORINI et al., 1999; SANT'ANA et al., 2006). Por outro lado, existem

relatos da ausência de diferença significativa na área do pericário entre grupo controle e desnutrido (MIRANDA-NETO et al., 2000; NATALI et al., 2005; SCHOFFEN et al., 2005).

Conclusão

A redução de proteína da dieta para 4% em ratos adultos conduziu a uma diminuição do peso corporal e da área do cólon ascendente, porém sem comprometer a população neuronal total do órgão, mas, por outro lado, apresentaram alteração nos parâmetros morfométricos, com aumento na área do pericário e do núcleo.

Referências

- ARAÚJO, E. J. A. et al. Biometric and food consumption parameters of rats subjected to hypoproteic and hypercaloric diet. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar*, Umuarama, v. 8, n. 2, p. 131-138, jul./dez. 2005.
- ARAÚJO, E. J. A. et al. Effects of protein and vitamin B deficiency on the morphoquantitative aspects of the myenteric plexus of the descending colon of adults rats. *Arq. Neuropsiquiatr.* São Paulo, v. 61, n. 2, p. 226-233, June 2003.
- ARAÚJO, E. J. A. et al. Quantitative study of the myenteric plexus of the descending colon of young rats subjected to intense protein deficiency. *Int. J. Morphol. Temuco*, v. 24, p. 591-597, 2006.
- BARBOSA, A. J. A. Técnica histoquímica para gânglios nervosos intramurais em preparados espessos. *Rev. Bras. Pesqui. Med. Biol.* São Paulo, v. 11, p. 95-97, 1978.
- BRANDÃO, M. C. S. et al. Effects of pre and postnatal protein energy deprivation on the myenteric plexus of the small intestine: a morphometric study in weanling rats. *Nutr. Res.* v. 23, p. 215-223, 2003.
- BREHMER, A. **Structure of enteric neurons**. New York: Springer, 2006.
- CASTELUCCI, P. et al. Effects of pre and postnatal protein deprivation and postnatal refeeding on myenteric neurons of the rat large intestine: a quantitative morphological study. *Cell Tissue Res.* v. 310, p. 1-7, Aug. 2002.
- FIRMANSYAH, A. L. et al. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* Nova York, v. 50, p. 261-268, 1989.
- FIORINE, A. S. L. et al. Quantitative morphological analysis of the myenteric neurons of the ileum in rats under experimental desnutrition. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 21, n. 2, p. 409-413, 1999.
- HERMES, C. et al. Intestinal ascending colon morphometrics in rats submitted to severe protein malnutrition. *Int. J. Morphol. Temuco*, v. 26, n. 2, p. 5-11, 2008.
- MEILUS, M.; NATALI, M. R. M.; MIRANDA-NETO, M.

- H. Study of the myenteric plexus of the ileum of rats subjected to proteic undernutrition. **Rev. Chil. Anat.** v. 16, n. 1, p. 9-14, 1998.
- MELLO, E. V. S. L.; STABILLE S. R.; MIRANDA-NETO, M. H. Effect of maternal protein deprivation on morphological and quantitative aspects of the myenteric plexus neurons of proximal colon in rats. **Arq. Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 55, n. 1 p. 106-113, Mar. 1997.
- MIRANDA-NETO, M. H. et al. Evaluation of the areas of neuronal cell bodies and nuclei in the myenteric plexus of the duodenum of adult rats. **Arq. Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 58, p. 246-251, 2000.
- NATALI, M. R. M.; MIRANDA-NETO, M. H. Effects of maternal proteic undersnutrition on the neurons of the myenteric plexus of the duodenum of rats. **Arq. Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 54, n. 2, p. 273-279, June 1996.
- _____. Effects of hypoproteic diet supply on adult Wistar rats (*Rattus norvegicus*). **Acta Scientiarum**, Maringá v. 22, n. 2, p. 567-571, 2000.
- NATALI, M. R. M.; MIRANDA-NETO, M. H.; ORSI, A. M. Morphometry and quantification of the myenteric neurons of the duodenum of adult rats fed with hypoproteic chow. **Int. J. Morphol.** Temuco, v. 21, p. 273-277, 2003.
- NATALI, M. R. M. et al. Morphoquantitative evaluation of the duodenal myenteric neuronal population in rats fed with hypoproteic ration. **Biocell**, v. 29, n. 1, p. 39-46, 2005.
- PACHALY J. R. et al. Anesthesia of Wistar rats (*Rattus norvegicus*) with allometrically scaled dose of Ketamine, Xylazine, Acepromazine and Atropine – preliminary report. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 6, n. 2, p. 195, Aug. 2003.
- SANT'ANA, D. M. G. et al. Morphological and quantitative study of the myenteric plexus of the ascending colon of rats subjected to proteic desnutrition. **Arq. Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 55, n. 4, p. 687-695, Dec. 1997.
- SANT'ANA, D. M. G.; MOLINARI, S. L.; MIRANDA-NETO, M. H. Effects of protein and vitamin B deficiency on blood parameters and myenteric neurons of the colon of rats. **Arq. Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 59, n. 3, p. 493-498, Sept. 2001.
- SANT'ANA, D. M. G. et al. The effect of both protein and vitamin B complex deficiency on the morphoquantitative features of the myenteric plexus of the ascending colon of adult rats. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 9, n. 2, p. 135-140, July/Dec. 2006.
- SCHOFFEN, J. P. F. et al. Effects of a hypoproteic diet on myosin-V immunostained myenteric neurons and the proximal colon wall of aging rats. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 112, p. 77-83, 2005.
- TORREJAIS, M. M. et al. Effects of proteic malnutrition after breast-feeding on the morphology of the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum of rats. **Rev. Unimar, Maringá**, v. 17, n. 2, p. 315-327, 1995.
- VITERI, F. E.; SCHNEIDER, R. E. Gastrointestinal alterations in protein-calorie malnutrition. **Sym. Gastr. Phys.** v. 58, p. 1505-1974, 1974.
- ZANIN, S. T. M. et al. Neurônios NADH-diaforase positivos do jejuno de ratos adultos (*Rattus norvegicus*) desnutridos : aspectos quantitativos. **Arq. Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 61, n. 3a, p. 650-653, 2003.

Recebido em: 19/12/2007

Aceito em: 30/07/2008